

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2003 年 4 月 10 日 (10.04.2003)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 03/028765 A1

- (51) 国際特許分類: A61K 47/48, 47/34, 45/00, 9/08, A61P 27/02, 27/06
- (21) 国際出願番号: PCT/JP02/10123
- (22) 国際出願日: 2002 年 9 月 27 日 (27.09.2002)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願2001-299193 2001 年 9 月 28 日 (28.09.2001) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 参天製薬株式会社 (SANTEN PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒533-8651 大阪府 大阪市 東淀川区 下新庄 3 丁目 9 番 19 号 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 田坂 文孝 (TASAKA, Humitaka) [JP/JP]; 〒630-0101 奈良県 生駒市 高山町 8916-16 参天製薬株式会社 研究所内 Nara (JP). 中川 雅喜 (NAKAGAWA, Masaki) [JP/JP]; 〒630-0101 奈良県 生駒市 高山町 8916-16 参天製薬株式会社 研究所内 Nara (JP). 堀部 吉偉 (HORIBE, Yoshihide) [JP/JP]; 〒630-0101 奈良県 生駒市 高山町 8916-16 参天製薬株式会社 研究所内 Nara (JP). 桑野 光明 (KUWANO, Mitsuaki) [JP/JP]; 〒630-0101 奈良県 生駒市 高山町 8916-16 参天製薬株式会社 研究所内 Nara (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告書  
— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: INJECTIONS FOR EYE TISSUE CONTAINING DRUG BOUND TO POLYETHYLENE GLYCOL

(54) 発明の名称: 薬物-ポリエチレングリコール結合体を含有する眼組織内注入剤

(57) Abstract: Injections for an eye tissues which contain a drug covalently bound to PEG. When a drug bound to PEG is injected into an eye tissue (iridociliary body, vitreous body, retina, optic nerve, etc.), the drug can be sustained in the tissue over a long time. Thus, the above injection makes it possible to treat or prevent various diseases in eye tissues by a single administration. PEG may be either in the chain-, star- or branched type. In case of chain-type PEG, a drug is generally bound using hydroxyl groups at both ends. Thus, the binding ratio of the drug to PEG is 1:1 or 2:1. In case of star- or branched-type PEG having a plural number of hydroxyl groups, a plural number of drugs can be covalently bound thereto.

[続葉有]



WO 03/028765 A1



---

(57) 要約:

本発明は、薬物と P E G が共有結合した物質を含有する眼組織内注入剤である。薬物－P E G 結合体を眼組織内に注入すれば、虹彩毛様体、硝子体、網膜、視神経などの眼組織内に薬物を長期間滞留させることができる。したがって、本発明の眼組織内注入剤は、1 回の投与で種々の眼組織における疾患を長期に渡って治療または予防することを可能とする。P E G は鎖状型、星型、枝分かれ型のいずれでもよい。鎖状型 P E G には一般に両末端の水酸基を利用して薬物を結合させるので、薬物と P E G の結合比は 1 : 1 または 2 : 1 となる。星型、枝分かれ型の P E G には水酸基が複数存在するので複数個の薬物を共有結合させることができる。

## 明 細 書

薬物－ポリエチレングリコール結合体を含有する  
眼組織内注入剤

5

技術分野

本発明は、長期間眼組織に滞留する、薬物－ポリエチレングリコール結合体を含有する眼組織注入剤に関する。

10 背景技術

虹彩毛様体、網膜、視神経、硝子体等の眼組織における疾患には難治性疾患が多く、その効果的な治療法の開発が望まれている。眼疾患に対しては、薬物を点眼投与して治療するのがもっとも一般的であるが、眼組織によっては薬物の移行が困難で、特に硝子体や網膜等の内眼部へは薬物はほとんど移行しない。このことが、内眼部における疾患の治療をより困難にしている。また、点眼投与では薬物の持続性を得るのは困難であり、頻回の投与が必要である。

そこで、薬物を眼組織内に直接投与する方法が試みられ、  
20 例えば、薬物を含有させたリポソームやマイクロスフェアを硝子体等の内眼部へ投与する技術が報告されている（特表平6－508369号、特開平4－221322号など）。

しかし、リポソームを用いて薬物の放出を制御することは容易でなく、また、リポソームやマイクロスフェアでは粒子径が大きいために、例えば、硝子体などの内眼部に投与する場合には透明性を維持できなくなることがある。

25 一方、薬物とポリエチレングリコール（PEG）とを共有結合させた結合体を用いると体内での薬物の滞留性が向上し、

薬物－PEG結合体が薬物デリバリーシステムとして有用であることが知られている。具体的な薬物－PEG結合体も種々合成されており、インシュリン－PEG結合体（US 4 1 7 9 3 3 7）、タキソール－PEG結合体（WO 9 3 / 2 4 4 7 6）、インターフェロン－PEG結合体（WO 9 9 / 4 8 5 3 5）、アスパラギナーゼ－PEG結合体（WO 9 9 / 3 9 7 3 2）、尿酸オキシダーゼ－PEG結合体（WO 0 0 / 7 6 2 9）等が知られている。しかしこれらの中に眼科領域での使用を目的としているものはない。

- 10      眼科領域での薬物－PEG結合体の応用に関しては、ハイドロコルチゾン－PEG結合体の強膜透過性がハイドロコルチゾン単体に比べ向上することが報告されている（Int. J. Pharm., 182(1), 79-92, 1999）。また、スーパーオキシドディスムターゼ（SOD）－PEG結合体をラットの静脈内に投与
- 15      することによりSODの滞留性が向上し、虚血による網膜の浮腫を抑制したとの報告がある（Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 32, 1471-1478, 1991）。

しかしながら、薬物－PEG結合体の眼組織内注入技術についての報告はなく、当然その眼組織内注入による効果は全く知られていない。

20

上記のような、薬物－PEG結合体は薬物デリバリーシステムとして有用であることは知られているものの、それを静脈内投与、経口投与、点眼投与する従来の方法では、種々の

25      眼組織、特に内眼部の疾患を治療するには多くの問題がある。例えば、静脈内投与された薬物－PEG結合体は血流によって全身へ行き渡るので眼組織へ到達する薬物量は、投与量に比べると極めて少量となる。したがって眼組織へ有効量の薬

物を到達させるには大量に投与しなければならないが、そう  
なると全身での副作用が大きな問題となる。さらに、静脈内  
投与された薬物－P E G 結合体は血中で代謝を受ける問題も  
あるので、治療の際は頻繁な投与が必要となる。経口投与で  
5 は、肝臓での代謝過程が加わるので眼組織への到達量はさら  
に少なくなる。局所投与である点眼投与でも、角膜上皮のバ  
リアー機構のため、角膜を透過して網膜等の内眼部へ到達す  
る薬物量は投与量の1万分の1程度である。

## 10 発明の開示

本発明者らは、薬物－P E G 結合体を直接眼組織内に投与  
すれば、虹彩毛様体、硝子体、網膜、視神経等の眼組織に直  
接薬物を到達させることができる上に、眼組織における薬物  
の長期間の滞留を可能にし、種々の眼組織における疾患の治  
療に有用であることを見出した。薬物－P E G 結合体を眼組  
15 織内に直接投与すれば、同結合体は全身循環に入ることがな  
いため、投与量のほぼ全てが眼組織における疾患の治療に利  
用され、また、全身の副作用も軽減される。薬物はP E G に  
結合した状態で投与されるが、その結合は眼組織内に注入後  
20 徐々に切れて薬物の放出を制御することができ、長期に渡っ  
て疾患の治療効果を発揮する。また、薬物－P E G 結合体は  
眼組織内での滞留性に優れ、仮に薬物とP E G との結合が眼  
組織内で切れず結合を保った形でも、各種眼組織における疾  
患の治療効果を発揮することもできる。したがって、本発明  
25 の眼組織内注入は、特にこれまで治療の困難であった各種眼  
組織における疾患を1回の投与で長期に渡って治療すること  
を可能とする。

本発明は、薬物と P E G が共有結合した物質を含有する眼組織内注入剤である。薬物－P E G 結合体を眼組織内に注入すれば、虹彩毛様体、網膜、視神経、硝子体等の眼組織内に長期間滞留するので、1 回の投与で長期に渡り薬効を持続させることが可能となる。

本発明において、P E G は鎖状型、星型、枝分かれ型のいずれでもよい。鎖状型 P E G には一般に両末端の水酸基を利用して薬物を結合させるので、薬物と P E G の結合比は 1 : 1 または 2 : 1 となる。星型、枝分かれ型の P E G には水酸基が複数存在するので複数個の薬物を共有結合させることができる。P E G の分子量には特に制限はなく、共有結合する薬物の種類・性質、薬物を滞留させる期間等を考慮して適宜選択できるが、通常 3 0 0 ~ 2 0 0 0 0 0 であり、より好ましくは 1 0 0 0 ~ 5 0 0 0 0 である。

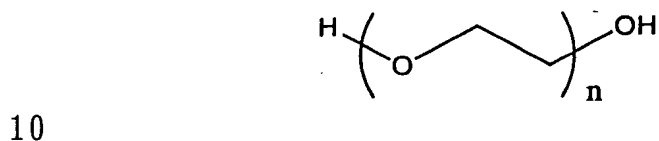
P E G の末端に位置する水酸基を利用して、カルボキシル基等の官能基を有する薬物と P E G を直接共有結合させることができる。P E G は、また、薬物の種類に応じて、薬物との共有結合を容易に形成できるよう、アミノ基、チオール基、カルボキシル基等の官能基を有する形に前もって誘導しておいてもよい。即ち、薬物の種類に応じて、P E G 側の水酸基を利用し、アミノ基、チオール基、カルボキシル基等の官能基を有する形に P E G を誘導した後、得られた誘導体に薬物を共有結合させることもできる。

また、P E G の末端に位置する水酸基の両方を共有結合形成に利用してもよいが、一方だけを利用するときには、結合に関与しない水酸基はアルキル基、アシル基等の保護基で保護されていてもよく、P E G を官能基を有する形に誘導したときには、両方の官能基を共有結合形成に利用してもよいが、

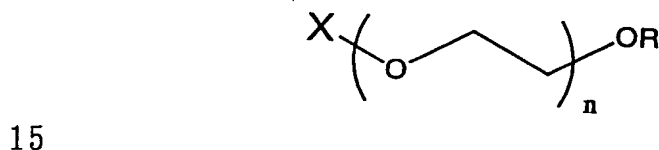
一方だけを利用することもできる。

これらの結合を下記に模式的に示す（下記の各式中、Xは薬物を、Rは水素原子若しくはアルキル基、アシル基等の保護基、またはカルボキシアルキル基、アミノアルキル基等を  
5 それぞれ表す）。

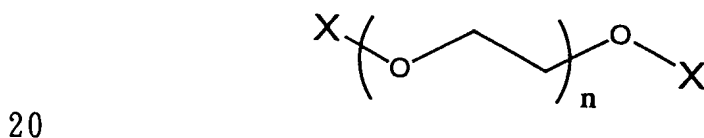
・薬物が結合していない状態（PEGのみ）：



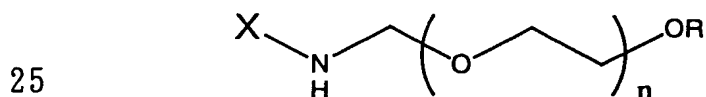
・PEGの水酸基に薬物が1個結合：



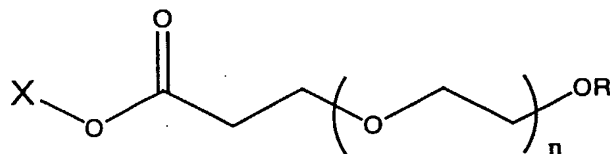
・PEGの水酸基に薬物が2個結合：



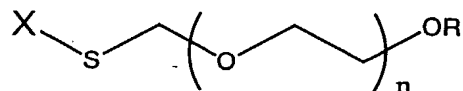
・PEGのアミノ誘導体に薬物が1個結合



・PEGのカルボキシル誘導体に薬物が1個結合



5 ・ P E G の チ オール 誘 導 体 に 薬 物 が 1 個 結 合



- 10 上記に示した共有結合の形成には汎用される方法を用いればよく、例えば P E G のカルボン酸誘導体と薬物の水酸基をエステル化する方法などが用いられる。

- P E G と共有結合させる薬物の化学構造には特に制限はなく、P E G と結合し得る官能基を有しておればよい。具体例
- 15 を挙げると、ヒドロキシ基、カルボキシル基、カルボニル基、アミノ基、アルケニル基等を有する薬物である。P E G との共有結合を容易に形成できるよう、アミノ基、チオール基、カルボキシル基、イソチオシアネート基等の官能基を有する形に前もって誘導することもできる。薬物の種類としては、
- 20 眼疾患に対して治療効果若しくは予防効果を有する薬物であれば特に制限はなく、例えば抗炎症薬、免疫抑制薬、抗ウイルス薬、抗菌薬、抗真菌薬、抗腫瘍薬、神経保護薬、血流改善薬、抗緑内障薬、鎮痛薬、麻酔薬、血管新生阻害薬、検査薬などが挙げられる。特に虹彩毛様体、網膜、視神経、硝子
- 25 体などの内眼部の疾患には、種々の原因による内眼部炎症、ウイルスや細菌の感染症、新生血管や網膜細胞の増殖変化を伴った増殖性硝子体網膜症、種々の原因による網膜出血、網膜剥離、網膜芽細胞種などに有効な薬物が挙げられる。例え



ば、内眼部手術に伴う炎症の場合にはリン酸ベタメタゾン等の抗炎症薬が、自己免疫性ブドウ膜炎の場合にはシクロスポリン等の免疫抑制薬が、ウイルス性感染症の場合にはガンシクロビル等の抗ウィルス薬が、術後感染症の場合にはオフロキサシン等の抗菌薬が、増殖性硝子体網膜症の場合には塩酸ドキシソルビシン、カルムスチン等の抗腫瘍薬、各種検査には眼科用の検査薬などが用いられる。

薬物－P E G 結合体を眼組織内へ注入する方法には、網膜下注射、硝子体内注射、強膜内注射、前房内注射、テノン嚢  
10 注射等が挙げられる。

本発明の効果は、後述の眼内動態試験および薬理試験で詳細に説明する。ここで簡単に説明すると、眼内動態試験では、フルオレセイン－P E G 結合体について、硝子体内注入後の内眼部（硝子体および網膜）における薬物－P E G 結合体の  
15 滞留性を検討した。その結果、本発明の眼組織内注入剤により、硝子体および網膜において、薬物が長期間に渡って滞留することが明らかとなった。さらに薬理試験では、ベタメサゾン－P E G 結合体を硝子体内または結膜下に1回注入し、クリプトン・レーザー誘発脈絡膜血管新生に対する効果を検討した。その結果、本発明の眼組織内注入剤により脈絡膜血管新生が抑制され、薬物－P E G 結合体が眼疾患の治療に有用であることが明らかになった。

これらの試験結果より、P E G と結合させる薬物を適宜選択することにより、眼内の種々の疾患を少ない投与回数で有効に治療することが可能であることがわかる。また、本発明  
25 の眼組織内注入剤を用いると、虹彩毛様体、網膜、視神経、硝子体等の眼内組織に薬物を効率よく滞留させることができるので、薬物の量を低減することが可能となり、副作用の軽

減効果も期待できる。

本発明の眼組織内注入剤における薬物－P E G結合体の製剤形態は液剤が好ましい。例えば、薬物－P E G結合体をB S S (Balanced Salt Solution) 溶液、グリセリン溶液、ヒ  
5 アルロン酸溶液などに溶解させて調製することができ、必要に応じ安定化剤、等張化剤、緩衝剤、p H調節剤、無痛化剤、保存剤などを適量添加することができる。

安定化剤としては、エデト酸ナトリウム等を挙げる  
ことができる。等張化剤としては、グリセリン、プロピレングリ  
10 コール、ポリエチレングリコール、塩化ナトリウム、塩化カリウム、ソルビトール、マンニトール等を挙げる  
ことができる。緩衝剤としては、クエン酸、リン酸水素ナトリウム、氷酢酸、トロメタモール等を挙げる  
ことができる。p H調節剤としては、塩酸、クエン酸、リン酸、酢酸、水酸化ナトリウム、炭  
15 酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム等を挙げる  
ことができる。無痛化剤としてはベンジルアルコール等を挙げる  
ことができる。防腐剤としては、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、パラオキシ安息香酸エステル、安息香酸ナトリウム、クロロブタノール等を挙げる  
ことができる。

20 本発明は、また、薬物－ポリエチレングリコール結合体を含有する眼組織内注入剤を患者に治療に有効な量で眼組織内へ投与することからなる眼疾患の治療方法を提供する。

#### 図面の簡単な説明

図1は、硝子体における濃度推移(5 6日間)を示すグラフ  
25 である。

図2は、網膜における濃度推移(5 6日間)を示すグラフである。

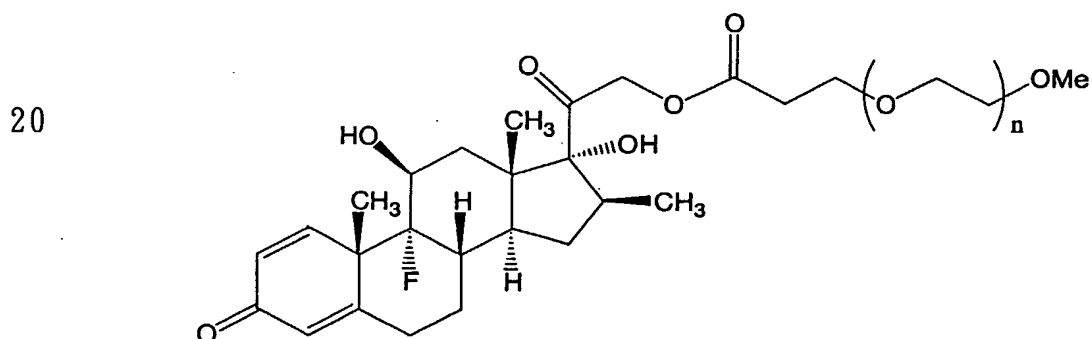
## 発明を実施するための最良の形態

以下に実施例を挙げて本発明を説明するが、これらの実施例は本発明の理解を助けるためのものであって、発明の範囲を限定するものではない。

### 5 (合成例)

#### ベタメサゾン－PEG結合体の合成

窒素雰囲気下、メトキシ－PEG－プロピオン酸 [Shearwater Polymers社製、平均分子量約5000] (1.00g; 約0.20mmol) およびジシクロヘキシルカルボジイミド (49.2mg; 0.23mmol) に塩化メチレン (7mL) を加え、0℃で20分攪拌した。次いで、ベタメタゾン (59.3mg; 0.15mmol) および4－ジメチルアミノピリジン (12.6mg; 0.10mmol) を加え、全体を室温下一夜攪拌した。反応液を30倍量のジエテルエーテル中に投じ、沈殿物を濾取し、少量の冷アセトンおよびジエテルエーテルで洗浄すると、下記式に示す標的化合物1.02mgが白色結晶で得られた。収率は約70%であった。



### 25 (眼内動態試験)

ウサギにおけるフルオロフォトメトリー法による眼内動態試験

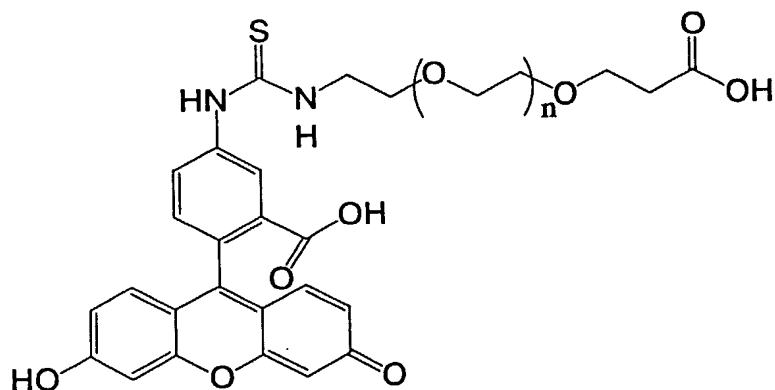
実際に上記で製造した薬物－PEG結合体を用いて微量の

組織移行を追跡することは測定技術上困難である。そこで、  
 蛍光を有し高感度に測定できるフルオレセインをモデル薬物  
 として、フルオレセイン-PEG結合体（以下FL-PEG  
 とする）を合成して眼内動態試験を行った。比較物質として  
 5 フルオレセインナトリウム（以下FLとする）を用いた。

#### FL-PEGの合成：

窒素雰囲気下、NH<sub>2</sub>-PEG-プロピオン酸 [Shearwater  
 Polymers社製]（1.00 g；約0.20 mmol）お  
 10 よびトリエチルアミン（55.6 μL；0.40 mmol）  
 をメタノール（100 mL）に溶解させた。PEGは平均分  
 子量約5000のものをを用いた。次いで、フルオレセインイ  
 ソチオシアネート（233 mg；0.60 mmol）を加え、  
 全体を室温下一夜攪拌した。反応溶液を減圧乾固した後、固  
 15 形物をクロロホルム／メタノール（1／1，v／v）に溶解  
 させ、カラムクロマトグラフィーにより未反応フルオレセイ  
 ンイソチオシアネートを除去した。分画留分を濃縮し、濃縮  
 物を30倍量のジエテルエーテル中に投じ、生じた沈殿物を  
 濾取し、少量のジエテルエーテルで洗浄すると、下記式に示  
 20 す標的化合物0.86 gが薄黄色結晶で得られた。

25



## 薬液の調製：

FL-PEG 18 mg に滅菌した 2.6% グリセリン溶液 10 mL を加え、この液を攪拌しながら FL-PEG を溶解させて注射液を調製した。同様の操作をして、FL の 10  $\mu$ g / mL の注射液を調製した。

## 投与方法および測定方法：

- 1) 塩酸ケタミン水溶液 (50 mg / mL) と塩酸キシラジン水溶液 (50 mg / mL) の 7 : 3 混合溶液を白色家ウサギに筋肉内投与しウサギを麻酔した。
- 2) トロピカミド (0.5%) / 塩酸フェニレフリン (0.5%) 点眼液を点眼し散瞳させた。
- 3) 塩酸オキシプロカイン (0.5%) 点眼液で眼表面を麻酔した。
- 4) 眼毛様体扁平部より 30 G 針の注射器を用いて、片眼に上記 FL-PEG または FL 薬液を硝子体中央部に 100  $\mu$ L ずつ注入した。
- 5) 硝子体内投与直後、投与後 1、2、4、7、15、18、23、28、35、42、49 および 56 日後にフルオロフォトメトリー装置を用いて、経時的に眼内蛍光強度を測定し、検量線を作成して硝子体および網膜における濃度推移を求めた。次に濃度推移から、モーメント法によりそれぞれの半減期を算出した。なお、眼内蛍光強度を測定する前に、上記 2) の操作を行った。

## 結果：

図 1 に硝子体中の濃度推移を示す。FL は投与後 2 日目以降は検出されなかったのに対し、FL-PEG は 56 日目で

も検出され硝子体中に存在することがわかる。図 2 に網膜中の濃度推移を示す。F L は投与後 1 日目しか検出されなかったのに対し、F L - P E G では 5 6 日目でも検出され網膜に存在することがわかる。

- 5 次に F L および F L - P E G の硝子体中および網膜中の半減期を表 1 に示す。F L - P E G の硝子体内における半減期は 3 . 4 日であるのに対し、F L では 4 時間未満にすぎないことから、F L - P E G は硝子体内における滞留期間を顕著に延長したといえる。網膜における F L - P E G の半減期は
- 10 1 1 . 0 日であった。F L は網膜への投与直後の 1 時点でしか検出されなかったため、半減期の計算はできなかったが、かなり短時間であることは明らかである。従って、F L - P E G が硝子体から網膜に移行して網膜内で長期間滞留していることが窺える。

15

表 1 (硝子体内および網膜内における半減期)

被験物質	硝子体	網膜
F L - P E G	3 . 4 日	1 1 . 0 日
F L	4 時間未満	—

20

- (表中の数値は、各 3 例の平均値を示す。F L - P E G の硝子体中半減期は 4 ~ 2 8 日目の測定値を、F L - P E G の網膜中半減期は 1 ~ 5 6 日目の測定値を、F L の硝子体中の半減期は投与直後および投与後 1 日目の測定値をそれぞれ用いて計算した。)
- 25

(薬理試験)

1. ラットにおけるクリプトン・レーザー誘発脈絡膜血管新

生に対する硝子体内投与ベタメサゾン－P E G 結合体の効果  
実施例に従って製造したベタメサゾン－P E G 結合体（以下B M－P E Gとする）をラットに硝子体内投与してクリプトン・レーザー誘発脈絡膜血管新生に対する効果を調べた。

5 薬液の調製：

B M－P E G 1 0 0 m g に滅菌した生理食塩水 1 m L を加え、この液を攪拌しながらB M－P E G を溶解させて硝子体内投与用注射液を調製した。

10 投与方法および測定方法：

1) 塩酸ケタミン水溶液（5 0 m g / m L）と塩酸キシラジン水溶液（5 0 m g / m L）の7：1混合液 1 m L / k g をラットに筋肉内投与することにより全身麻酔を行った。

2) 光凝固は、0. 5 %トロピカミド－0. 5 %塩酸フェニレフリン溶液により散瞳させたのち、クリプトンレーザー光凝固装置（赤色）を使用し、スポットサイズ1 0 0  $\mu$  m、出力1 0 0 m W、凝固時間0. 1 s e cの凝固条件で行った。

3) 組織観察用カバーガラスをコンタクトレンズとして用い、眼底後局部へ太い網膜血管を避けて散在的に1 眼につき8 個の光凝固を行った。なお、このとき光凝固はブルッフ膜の断裂を目的に、焦点を網膜深層に合わせて行った。光凝固後、眼底撮影を行った。

4) 眼毛様体扁平部より3 3 G 針の注射器を用いて、両眼に上記B M－P E G または基剤（生理食塩水）を硝子体中央部に5  $\mu$  L ずつ注入した。

5) 光凝固後1 4 日目に1 0 %フルオレセイン0. 1 m L を尾静脈から注入して、蛍光眼底造影を行った。

6) 蛍光眼底造影で、蛍光漏出が認められない光凝固部位を

陰性、明らかな蛍光漏出が認められるものを陽性と判断した。  
また、若干の蛍光漏出が認められる光凝固部位は、それが2箇所存在した時に陽性とした。以下の式に従って新生血管発現率を算出した。

5

新生血管発現率（％）

$$= (\text{陽性光凝固部位数} / \text{全光凝固部位数}) \times 100$$

結果：

- 10 硝子体内投与したBM-PEGの脈絡膜血管新生に対する効果を表2に示す。基剤投与眼における新生血管発現率は75.0％であったのに対し、BM-PEG投与眼は35.4％であり、BM-PEGの硝子体内投与によって新生血管の発現が抑制された。

15

表 2

被験物質	新生血管発現率（％）
基剤	75.0
BM-PEG	35.4

20

（表中の数値は、基剤＝7眼、BM-PEG＝6眼の平均値を示す。）

2. ラットにおけるクリプトン・レーザー誘発脈絡膜血管新生に対する結膜下投与ベタメサゾン-PEG結合体の効果
- 25

実施例に従って製造したベタメサゾン-PEG結合体（以下BM-PEGとする）をラットに結膜下投与してクリプトン・レーザー誘発脈絡膜血管新生に対する効果を調べた。比



較物質としてリン酸ベタメサゾン（以下B Pとする）を用いた。

薬液の調製：

- 5      B M - P E G 4 0 m g に滅菌した生理食塩水 1 m L を加え、この液を攪拌しながら B M - P E G を溶解させて結膜下投与用注射液を調製した。同様の操作をして、B P の 2 . 8 m g / m L の注射液を調製した。

10    投与方法および測定方法：

投与方法および測定方法は、上記硝子体内投与試験の 4 ) 項を以下のように変更して行った。

4 ) 3 0 G 針の注射器を用いて、両眼に上記 B M - P E G または B P を結膜下に 5 0  $\mu$  L ずつ注入した。

15

結果：

- 結膜下投与した B M - P E G の脈絡膜血管新生に対する効果を表 3 に示す。基剤投与眼における新生血管発現率は 7 1 . 9 % であったのに対し、B M - P E G 投与眼は 3 5 . 4 % で
- 20    あり、B M - P E G の結膜下投与投与によって新生血管の発現が抑制された。また、P E G に結合していない B P の新生血管発現率は 5 0 . 0 % であり、抑制効果はみられたものの B M - P E G より抑制効果が弱かった。この結果から、P E G 結合体にする事によって眼組織内での滞留期間が延長さ
- 25    れ、抑制効果が増大したことが示された。

表 3

被験物質	新生血管発現率 (%)
基剤	71.9
B M - P E G	35.9
B P	50.0

(表中の数値は、各8眼の平均値を示す。)

#### 産業上の利用可能性

- 10 本発明の薬物－P E G結合体を含有する眼組織内注入剤を用いることにより、虹彩毛様体、硝子体、網膜、視神経などの眼組織内に薬物を長期間滞留させることができる。したがって、本発明の眼組織内注入剤は、1回の投与で種々の眼組織における疾患を長期に渡って治療または予防することを可能とする。
- 15

20

25

## 請求の範囲

1. 薬物－ポリエチレングリコール結合体を含有する眼組織内注入剤。
- 5 2. 眼組織内への注入方法が、結膜下注射、硝子体内注射、網膜下注射、強膜内注射、前房内注射またはテノン嚢注射である請求項1記載の眼組織内注入剤。
3. 薬物が、抗炎症薬、免疫抑制薬、抗ウイルス薬、抗菌薬、抗真菌薬、抗腫瘍薬、神経保護薬、血流改善薬、抗緑内障薬、鎮痛薬、麻酔薬、血管新生阻害薬または検査薬である請求項1記載の眼組織内注入剤。
- 10 4. 薬物が、眼疾患の治療または予防のための薬物である請求項1記載の眼組織内注入剤。
5. 薬物－ポリエチレングリコール結合体を含有する眼組織内注入剤を患者に治療に有効な量で眼組織内へ投与することからなる眼疾患の治療方法。
- 15 6. 眼組織内への投与方法が、結膜下注射、硝子体内注射、網膜下注射、強膜内注射、前房内注射またはテノン嚢注射である請求項5記載の眼疾患の治療方法。
- 20 7. 薬物が、抗炎症薬、免疫抑制薬、抗ウイルス薬、抗菌薬、抗真菌薬、抗腫瘍薬、神経保護薬、血流改善薬、抗緑内障薬、鎮痛薬、麻酔薬、血管新生阻害薬または検査薬である請求項5記載の眼疾患の治療方法。
8. 薬物が、眼疾患の治療または予防のための薬物である請求項5記載の眼疾患の治療方法。
- 25 9. 眼組織内注入剤の製造のための薬物－ポリエチレングリコール結合体の使用。
10. 眼組織内への注入方法が、結膜下注射、硝子体

内注射、網膜下注射、強膜内注射、前房内注射またはテノン  
嚢注射である請求項 9 記載の使用。

1 1 . 薬物が、抗炎症薬、免疫抑制薬、抗ウイルス薬、  
抗菌薬、抗真菌薬、抗腫瘍薬、神経保護薬、血流改善薬、抗  
5 緑内障薬、鎮痛薬、麻酔薬、血管新生阻害薬または検査薬で  
ある請求項 9 記載の使用。

1 2 . 薬物が、眼疾患の治療または予防のための薬物  
である請求項 9 記載の使用。

10

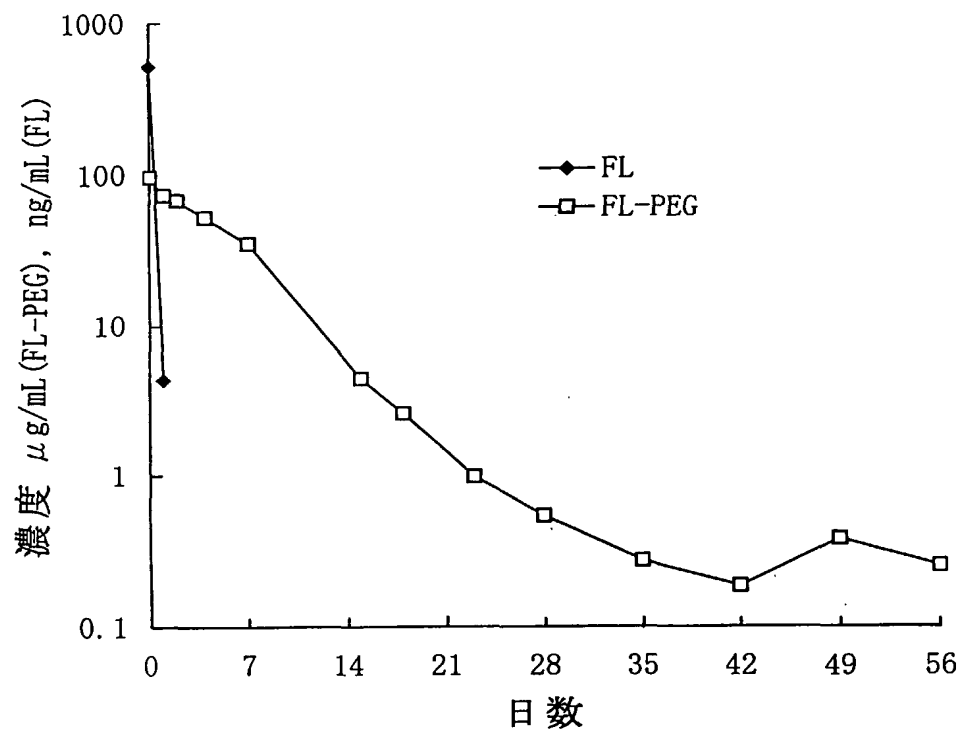
15

20

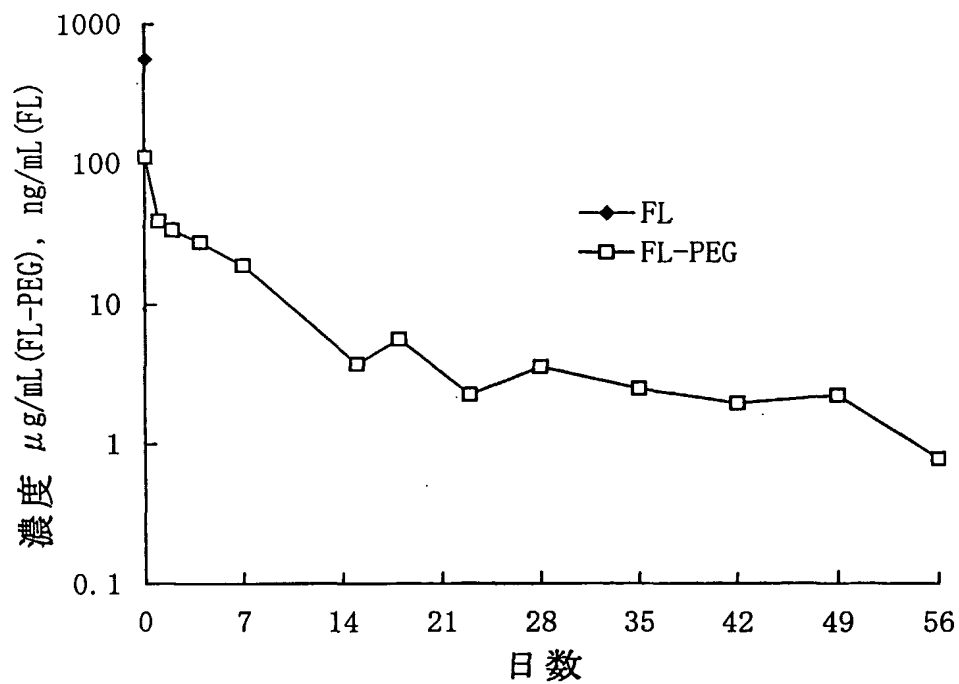
25

**Fig.1**

硝子体中濃度推移

**Fig.2**

網膜中濃度推移



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/JP02/10123

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> Int.Cl <sup>7</sup> A61K47/48, 47/34, 45/00, 9/08, A61P27/02, 27/06		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl <sup>7</sup> A61K47/48, 47/34, 45/00, 9/08, A61P27/02, 27/06		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00/45835 A1 (Human Genome Sciences, Inc.), 10 August, 2000 (10.08.00), Particularly, abstract; Claims; page 57, line 8 to page 64, line 12; page 124, line 30 to page 125, line 5 & EP 1156820 A1 & JP 2002-539082 A	1-4, 9-12
P, X	WO 01/74400 A1 (Santen Pharmaceutical Co., Ltd.), 11 October, 2001 (11.10.01), Particularly, abstract; Claims; page 12, line 17 to page 24, line 16 & JP 2002-326962 A	1-4, 9-12
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 14 January, 2003 (14.01.03)		Date of mailing of the international search report 28 January, 2003 (28.01.03)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP02/10123

**C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 93/00076 A1 (Minnesota Mining and Manufacturing Co.), 07 January, 1993 (07.01.93), Particularly, page 6, line 28 to page 7, line 7; example 2(D) & EP 591284 A1 & DE 4120760 A1 & JP 6-508369 A	1-4, 9-12

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/10123

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 5 to 8

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 5 to 8 pertain to a method for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of (continued to extra sheet)

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

### Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/10123

Continuation of Box No.I-1 of continuation of first sheet(1)

the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to make an international search.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>7</sup> A61K47/48, 47/34, 45/00, 9/08, A61P27/02, 27/06

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>7</sup> A61K47/48, 47/34, 45/00, 9/08, A61P27/02, 27/06

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS(STN), MEDLINE(STN), EMBASE(STN), BIOSIS(STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO 00/45835 A1(Human Genome Sciences, Inc.)2000.08.10 特に、Abstract, Claims, 第57 <sup>°</sup> -ジ 第8行-第64 <sup>°</sup> -ジ 第12行, 第124 <sup>°</sup> -ジ 第30行-第125 <sup>°</sup> -ジ 第5行 & EP 1156820 A1 & JP 2002-539082 A	1-4, 9-12
P X	WO 01/74400 A1(参天製薬株式会社)2001.10.11 特に Abstract, 請求の範囲, 第12 <sup>°</sup> -ジ 第17行-第24 <sup>°</sup> -ジ 第16行 & JP 2002-326962 A	1-4, 9-12

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

1 4 . 0 1 . 0 3

国際調査報告の発送日

28.01.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

河原下 浩一



4 C

9 2 8 4

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 93/00076 A1(MINESOTA MINING AND MANUFACTURING COMPANY)1993.01.07 特に、第6ページ 28行-第7ページ 第7行, EXAMPLE 2 (D) & EP 591284 A1 & DE 4120760 A1 & JP 6-508369 A	1-4, 9-12

## 第 I 欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第 1 ページの 2 の続き)

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 5-8 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、  
請求の範囲 5-8 は治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT 17 条  
(2)(a)(i) 及び PCT 規則 39.1(iv) の規定により、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であって PCT 規則 6.4(a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

## 第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1 ページの3 の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。